植物次生物质对烟青虫和棉铃虫食物利用及中肠解毒酶活性的影响

董钧锋，张继红，王琛柱*

（中国科学院动物研究所，农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室，北京　100080）

摘要：用分别添加 0.5%（干重比）棉酚、烟碱、番茄苷和辣椒素 4 种植物次生物质的人工饲料饲养烟青虫 *Helicoverpa assulta* 和棉铃虫 *H. armigera* 5 龄幼虫 48 h，测定这些次生物质对烟青虫和棉铃虫的营养效应和中肠谷胱甘肽 S-转移酶（GST）及羧酸酯酶（CarE）活性的影响。结果表明：在实验浓度下，棉酚可显著降低烟青虫的相对消化率，但对棉铃虫却有助食作用；番茄苷抑制烟青虫的取食和生长，对其近似消化率和食物利用率也有显著的抑制作用，但食物转化率有明显升高，对棉铃虫的各营养指标无显著影响；烟碱对烟青虫和棉铃虫的相对生长率均无影响；辣椒素使烟青虫的取食量有大幅度的提高，对棉铃虫的取食量无影响，但引起其相对消化率的提高。由此可见，棉铃虫对 4 种次生物质有普遍的适应性，而烟青虫只对寄主植物所含的烟碱和辣椒素有较好的适应性。烟青虫和棉铃虫幼虫中肠 CarE 活性不受 4 种次生物质的影响，烟碱和辣椒素对烟青虫 GST 有显著的诱导作用，番茄苷对烟青虫 GST 活性则有抑制作用，4 种次生物质对棉铃虫 GST 均无显著影响。

关键词：植物次生物质；烟青虫；棉铃虫；营养指标；谷胱甘肽-S-转移酶；羧酸酯酶

中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296（2002）03-0296-05

Effects of plant allelochemicals on nutritional utilization and detoxication enzyme activities in two *Helicoverpa* species

DONG Jun-Feng，ZHANG Ji-Hong，WANG Chen-Zhu*（State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents，Institute of Zoology，Chinese Academy of Sciences，Beijing　100080，China）

Abstract：The effects of four plant allelochemicals，gossypol，nicotine，tomatine and capsicine，on nutritional utilization and detoxication enzymes activities in midgut were investigated with the 5th instar larvae of cotton bollworm，*Helicoverpa armigera*，and oriental tobacco budworm，*H. assulta*. The results showed that *H. armigera* exhibited wide adaptability to all the four allelochemicals，whereas *H. assulta* could only fit well to nicotine and capsicin，which were the allelochemicals from its host plants. Midgut CarE activity was unaffected by the allelochemicals in *H. armigera* and *H. assulta*. GST activity in the midgut of *H. assulta* could be strongly induced by nicotine and capsicine，but significantly inhibited by tomatine；none of the four allelochemicals could affect midgut GST activity in *H. armigera*.

Key words：plant allelochemicals；*Helicoverpa assulta*；*H. armigera*；nutritional indices；detoxication enzymes

自 Ehrich 和 Raven（1964）提出协同进化理论以来，以植物次生物质为媒介的昆虫与植物关系的研究一直是化学生态学和进化生物学的热点领域之一。已有的研究表明，植物次生物质在植物对植食性昆虫的化学防御中起重要作用，能引起植食性昆虫忌避、拒食、中毒，或干扰其消化和对营养成分的吸收（钦俊德，1987）。在长期的进化过程中，为克服次生物质的毒害作用，植食性昆虫发展了多种对次生物质适应的方式，其中利用解毒酶系进行解毒和排毒是其适应植物次生物质的重要方式

基金项目：国家重点基础研究发展规划项目（G2000016208）、中国科学院知识创新工程重要方向项目（KSCX2-SW-105）和国家自然科学基金项目（30070109）

第一作者简介：董钧锋，男，1973 年 10 月生，博士生，研究方向为铃夜蛾属昆虫寄主选择的遗传基础，E-mail：dongjf@panda.ioz.ac.cn

* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：czwang@panda.ioz.ac.cn

收稿日期 Received：2000-12-28；接受日期 Accepted：2001-08-29

（Lindroth，1989），各种解毒酶系的有机组合在一定程度上决定了植食性昆虫的食性广度（Berenbaum，1991）。谷胱甘肽-S-转移酶（GST）和羧酸酯酶（CarE）是昆虫体内重要的解毒酶系，对有毒次生物质的代谢起重要作用，并且解毒酶活性可被诱导增加，但不同的昆虫这种应变反应幅度有差异。GST 具有可诱导性，寄主植物及其次生物质可诱使某些昆虫 GST 活性的大幅增加；CarE 也有微弱或中等程度的诱导性，不同的次生物质可以使亚热带粘虫 *Spodoptera eridania* 幼虫 CarE 的活性提高 35% ~ 114%（Yu and Hsu，1985）。

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 和烟青虫 *H. assulta* 是铃夜蛾属近缘昆虫，尽管二者的形态特点都很相似，但寄主范围却有很大的差异，棉铃虫是典型的广食性昆虫，取食至少 30 科 200 余种植物；烟青虫是一种寡食性昆虫，它的寄主范围与棉铃虫相比要窄的多，农作物中主要为害茄科的烟草和辣椒（Tang *et al.*，2000）。在棉铃虫和烟青虫的寄主种类中，棉花和番茄是棉铃虫的寄主植物，烟草是二者共同的寄主植物，辣椒则是烟青虫独有的寄主植物。每种寄主植物又含有各自特异的次生物质：棉酚是棉属植物特有倍半萜烯类次生物质，栽培棉花中占花蕾干重的 0.5%；番茄苷是番茄特有的甾醇生物碱，占番茄鲜重的 0.4%；烟碱是烟草特有的吡啶类生物碱，在新鲜烟叶内的含量为 0.2% ~ 0.5%；辣椒素为辣椒中含有的一种壬烯酰胺，在辣椒果实和种子内的含量分别为 0.49% 和 0.07%（Heftmann and Schwimmer，1972；Parr and Thurston，1972；许刚和钦俊德，1987）。我们以上述 4 种有代表性的植物次生物质为材料，研究了它们对棉铃虫和烟青虫在食物利用和 GST 及 CarE 活性上表现的异同，以阐述两种寄主范围不同的近缘种在对次生物质适应对策上的差异。

1 材料与方法

1.1 化学试剂

还原型谷胱甘肽（GSH）、1-氯-2，4-二硝基苯（CDNB）、α-萘酚、α-乙酸萘酯（α-NA）、番茄苷和辣椒素均为 Sigma 公司产品；固兰盐 B、烟碱、SDS 分别为 Fluka、Merck-Schuchardt、Merck 产品；棉酚由中国医学科学院药物研究所提供。

1.2 供试虫源和饲养方法

棉铃虫和烟青虫分别采自河南安阳棉田和许昌烟田，在室内繁殖多代。两种昆虫的饲养条件和饲料配方同王琛柱等（Wang and Dong，2001）的方法。试虫用人工饲料饲养至 4 龄末期，严格挑选发育均一刚蜕皮进入 5 龄的幼虫，饥饿 10 ~ 12 h，称重，然后分别用对照饲料和添加 0.5%（干重比）棉酚、烟碱、番茄苷和辣椒素的人工饲料饲养 48 h。次生物质在人工饲料中的含量相当于或略高于其在相应植物中的水平。人工饲料添加次生物质时，先用 2 mL 无水乙醇溶解次生物质，当人工饲料冷却至 40℃时与维生素 C 一并加入并充分混匀，对照饲料中亦加入等量的无水乙醇。

1.3 营养指标的测定

营养指标测定参照王琛柱（1997）的方法，幼虫取食处理饲料和对照饲料 48 h 后，称其鲜重，而后将幼虫、粪便及剩余饲料先在 50℃下烘 24 h，再在 100℃下烘至恒重，分别称得幼虫、粪便和剩余饲料干重，并测定各种饲料的干湿比，试前幼虫鲜重和试后幼虫干鲜比，推算试前饲料干重和试前幼虫干重。根据试前饲料干重（A）、饲后饲料干重（B）、试前幼虫干重（C）、饲后幼虫干重（D）和粪便干重（E），计算以下营养指标：

幼虫相对生长率 $= (D - C) / \{[(C + D)/2] \times 2\}$

幼虫相对取食量 $= (A - B) / \{[(C + D)/2] \times 2\}$

食物利用率 $= [(D - C)/(A - B)] \times 100$

食物转化率 $= [(D - C)/(A - B - E)] \times 100$

近似消化率 $= [(A - B - E)/(A - B)] \times 100$

1.4 离体酶系测定方法

幼虫 5 头一组在 0 ~ 4℃迅速解剖，用预冷的 0.15 mol/L NaCl 溶液冲去体液，截取中肠，去除内含物，加 1.2 mL 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液在冰浴状态下匀浆。匀浆液用 Beckman 离心机在 11 500 × g、4℃ 离心 15 min，取上清液作酶源，−20℃保存待测。

羧酸酯酶活性测定参考 van Asperen（1962）方法。取 0.1 mL 酶液加入到 2.9 mL 3×10^{-4} mol/L α-NA 溶液（含毒扁豆碱 10^{-5} mol/L）中，在 30℃水浴反应 15 min 后加入 0.5 mL 显色剂终止反应，静置 15 min 后测定其 600 nm 处的光密度值，重复 3 次。以不同浓度的 α-萘酚作标准曲线。

谷胱甘肽 S-转移酶活性测定参考 Lee（1991）的方法。取 pH 6.5 0.04 mol/L 的磷酸缓冲液 2.7 mL，0.1 mL 酶液，20 mmol/L GSH 溶液 0.1 mL 加入到比色杯中，30℃温浴 3 min 后，加入 30 mmol/L 的 CDNB 0.1 mL 使反应开始，记录连续 1 min 340

nm处的光吸收变化值，重复3次。根据CDNB-谷胱甘肽的消光系数9.6 $mmol^{-1}\cdot cm^{-1}$计算酶活力。

蛋白质含量测定参考Bradford（1976）方法，以牛血清白蛋白为标准蛋白。

1.5 数据处理

获得的数据用方差分析（ANOVA）进行统计分析，并用Duncan的新复极差法（$P=0.05$）检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 次生物质对烟青虫和棉铃虫的营养效应

2.1.1 棉酚和番茄苷：从表1中可以看出，取食添加棉酚的人工饲料后，烟青虫的近似消化率有了显著下降，但其相对生长率并无显著变化，说明棉酚主要通过抑制消化率来施加对烟青虫的影响。0.5%的棉酚使棉铃虫的相对取食量有了显著升高，说明棉酚对棉铃虫有一定的取食刺激作用，食物利用率的降低可能是机体内部生理调节的结果。

番茄苷可引起烟青虫相对生长率、相对取食量、食物利用率和近似消化率显著下降，由此可以看出对烟青虫来说番茄苷是一种有效的抗虫次生物质，烟青虫食物转化率的升高可能是对消化率下降的一种生理补偿。许刚等（1987）的研究中也有类似的结果，并推断番茄苷对烟青虫生长的抑制作用主要因拒食引起。在实验浓度下番茄苷对棉铃虫幼虫没有显著影响，这说明棉铃虫对番茄苷有较好的适应性。

2.1.2 烟碱：烟青虫和棉铃虫对二者共同的寄主植物烟草所合成的烟碱均有着较好的适应性（表1）。0.5%的烟碱虽然使烟青虫的近似消化率有了显著下降，但其相对生长率并未受影响；取食添加烟碱的人工饲料后，棉铃虫的相对取食量和近似消化率均显著下降，但其食物利用率和食物转化率却有不同程度的升高，相对生长率与对照比也无显著差异。

2.1.3 辣椒素：从表1中可以看出，辣椒素虽使烟青虫的食物利用率降低了25.7%，但同时使其相对取食量增加了47.3%，这说明在实验浓度下，辣椒素对烟青虫有显著的取食刺激作用。棉铃虫近似消化率的提高可能与其中肠消化酶活性受辣椒素的诱导有关。

表1 植物次生物质对烟青虫和棉铃虫5龄幼虫营养指标的影响

Table 1 Effects of plant allelochemicals on the nutritional indices of the 5th instar larvae of *H. armigera* and *H. assulta*

	相对生长率 Relative growth rate		相对取食量 Relative consumption rate		食物利用率 Efficiency of conversion of ingested food		近似消化率 Approximate digestibility		食物转化率 Efficiency of conversion of digested food	
	棉铃虫 *H. armigera*	烟青虫 *H. assulta*	棉铃虫 *H. armigera*	烟青虫 *H. assulta*	棉铃虫 *H. armigera*	烟青虫 *H. assulta*	棉铃虫 *H. armigera*	烟青虫 *H. assulta*	棉铃虫 *H. armigera*	烟青虫 *H. assulta*
对照 control	0.711±0.005 a	0.608±0.038 a	2.219±0.050 b	2.022±0.118 b	32.26±0.71 b	30.54±1.94 a	58.00±0.80 bc	57.91±2.01 a	55.64±1.00 bc	53.14±3.58 b
棉酚 gossypol	0.701±0.007 a	0.483±0.042 a	2.410±0.031 a	1.945±0.126 bc	29.13±0.36 c	24.92±1.76 ab	56.09±0.55 cd	46.17±1.54 c	52.00±0.77 c	54.64±4.09 b
烟碱 nicotine	0.697±0.004 a	0.619±0.025 a	1.864±0.059 c	2.283±0.084 a	37.96±1.28 a	27.33±1.21 ab	55.23±0.76 d	49.32±1.20 bc	68.93±2.63 a	55.84±3.12 b
番茄苷 tomatine	0.702±0.008 a	0.271±0.042 b	2.087±0.047 b	1.265±0.132 c	33.95±1.00 b	20.68±2.93 b	58.64±0.51 b	27.21±2.00 d	57.81±1.40 b	77.86±9.06 a
辣椒素 capsicin	0.685±0.016 a	0.535±0.066 a	2.157±0.109 b	2.979±0.502 a	32.45±1.03 b	22.70±3.46 b	60.74±0.92 a	55.80±5.02 ab	53.61±1.82 bc	43.49±7.07 b

注：数据为平均值±*SE*，下同。烟青虫 $n=10$，棉铃虫 $n=15$。纵列内具有不同字母的表示经Duncan新复极差法检验相互间差异显著（$P<0.05$）

Note: The data in the table are mean ± *SE*; the same for table 2. For *H. assulta*, $n=10$; for *H. armigera*, $n=15$. Means followed by the same letter within a column were not significantly different（$P<0.05$; Duncan's multiple range test）

2.2 次生物质对烟青虫和棉铃虫中肠CarE和GST的影响

取食对照饲料后，广食性的棉铃虫幼虫中肠CarE和GST的活性比寡食性的烟青虫幼虫的分别高出1.7倍和2.5倍左右（表2）。

在实验浓度内，次生物质对两种试虫中肠CarE活性并无显著影响，说明在对植物次生物质的解毒过程中CarE并非重要的解毒酶。棉铃虫GST活性也不受次生物质的影响，但不同的次生物质对烟青虫GST活性有着迥然不同的影响，烟碱和辣椒素对烟青虫中肠GST有显著的诱导作用，活性分别提高了51.2%和71.4%，表明GST在对

表 2 植物次生物质对烟青虫和棉铃虫 5 龄幼虫解毒酶活性的影响

Table 2 Effects of plant allelochemicals on the detoxication enzyme activities of the 5th instar larvae of *H*. *armigera* and *H*. *assulta*

次生物质 Allelochemicals	CarEs 比活力［mmol/(mg·min)］ Carboxylesterase activity		GST 比活力［μmol/(mg·min)］ GST activity	
	烟青虫 *H*. *assulta*	棉铃虫 *H*. *armigera*	烟青虫 *H*. *assulta*	棉铃虫 *H*. *armigera*
对照 control	11.16 ± 0.31 ab	19.29 ± 0.34 a	85.81 ± 3.39 b	216.89 ± 33.20 a
棉酚 gossypol	10.34 ± 1.95 ab	21.83 ± 3.40 a	83.70 ± 3.08 b	234.40 ± 35.43 a
烟碱 nicotine	10.09 ± 0.37 ab	20.37 ± 2.80 a	129.76 ± 4.87 a	250.56 ± 18.66 a
番茄苷 tomatine	8.00 ± 0.73 b	18.86 ± 1.50 a	46.29 ± 3.76 c	241.21 ± 12.34 a
辣椒素 capsicin	13.37 ± 2.09 a	23.74 ± 0.42 a	147.07 ± 16.71 a	294.14 ± 22.48 a

这些次生物质的解毒过程中发挥重要作用；棉酚对烟青虫 GST 活性并无影响；番茄苷则显著抑制了烟青虫 GST 活性。

3 讨论

上述结果表明，广食性的棉铃虫较寡食性的烟青虫更易突破非寄主植物的取食障碍。烟青虫对寄主植物体内的次生物质烟碱和辣椒素表现出突出的适应性，对非寄主植物体内的次生物质则存在着不同程度的取食利用障碍，对番茄苷明显无法适应，对棉酚的适应性也不如棉铃虫。棉铃虫取食添加次生物质的人工饲料后其生长率并无显著变化，说明棉铃虫对植物次生物质有较好的适应性。

董向丽等（1998）用 0.01% 的槲皮素和 2-十三烷酮处理棉铃虫后，其 F_1 代 GST 比活性分别是人工饲料种群的 2.9 和 5.5 倍，而 F_2 代的活性均提高到近 15 倍，表明棉铃虫接触植物次生物质的时间越长，诱导作用越强；我们用 0.5% 的棉酚、烟碱、番茄苷和辣椒素短时间（48 h）处理棉铃虫，棉铃虫 GST 活性变化不显著，这可能与棉铃虫接触植物次生物质时间的长短有关。

从实验结果还可以看出寄主范围不同的棉铃虫和烟青虫存在着不同的生化适应策略，广食性的棉铃虫解毒酶倾向于以组成型为主，正常情况下活性亦较高，对不同种类的次生物质均能进行有效的解毒或降毒；寡食性的烟青虫解毒酶（如 GST）活性倾向于诱导型，且只被寄主植物的次生物质高水平诱导。在对次生物质的解毒过程中，昆虫需要消耗大量的营养和能量（Schoonhoven and Meerman，1978）。专食性昆虫的解毒酶有选择地对相对少量的底物起反应以降低对营养和能量的消耗，这种专化性可能来自有限的寄主稳定的选择作用；广食性昆虫在取食过程中不可避免地会接触种类较多的有毒次生物质，因而不得不以增加能耗的方式来对多种多样的有毒次生物质进行降解或解毒（Whittaker and Feeny，1971）。

植物化学成分尤其是次生物质在植食性昆虫寄主植物演变过程中起重要作用（Becerra，1997）。根据作用方式，植物次生物质可分为有毒次生物质，即质的防御，和降低消化率的次生物质，即量的防御（Cates and Redak，1983）。Feeny（1976）认为能突破植物量的防御体系的为广食性昆虫，能适应植物质的防御体系的为专食性昆虫，并认为专食性昆虫主要靠生化上的适应机制，而广食性昆虫则通过灵活多样的行为适应策略来对付次生物质的毒害作用。从上述结果显示，广食性的棉铃虫其解毒酶水平显著高于寡食性的烟青虫，提示生化解毒机制在广食性昆虫适应有毒次生物质方面同样起着重要作用。行为适应和生化适应不是截然分开的两个过程，而是一个相互衔接的过程，即行为上的适应是第一步，而昆虫要成功地扩展寄主范围，必需在生理生化上适应新寄主植物的次生物质。

致谢 中国农业大学高希武教授和李腾武博士提供毒扁豆碱并在实验技术上给予帮助，王立霞女士协助饲养试虫，特此一并致谢。

参 考 文 献（References）

Becerra J X，1997. Insects on plants: macroevolutionary chemical trends in host use. *Science*，276：253 – 256.

Berenbaum M R，1991. Comparative processing of allelochemicals in the Papilionidae（Lepidoptera）. *Arch*. *Insect Biochem*. *Physiol*.，17：213

－221.

Bradford M M，1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*，72：248－254.

Cates R G，Redak R A，Henderson C B，1983. Patterns in defensive natural product chemistry: douglas fir and western sprace budworm. In: Hedin P A ed. Plant Resistance to Insects. New York: Maple Press Co. 3－19.

Dong X L，Gao X W，Zheng B Z，1998. Effects of plant allelochemicals on the glutathione-S-transferase and acetylcholinesterase in *Helicoverpa armigera*. *Acta Phytophylacica Sin.*，25（1）：72－78.［董向丽，高希武，郑炳宗，1998. 植物次生物质对棉铃虫谷胱甘肽S-转移酶和乙酰胆碱酯酶的影响. 植物保护学报，25（1）：72－78］

Ehrich P R，Raven P H，1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*，18：586－608.

Feeny P P，1976. Plant apparency and chemical defense. *Rec. Adv. Phytochem.*，10：1－40.

Heftmann E，Schwimmer S，1972. Degradation of tomatine to 3-hydroxy-5-pregn-16-en-20-one by ripe tomatoes. *Phytochem.*，11：2 783－2 787.

Lee K，1991. Glutathione S-transferase activities in phytopagous insects: induction and inhibition by plant phototoxins and phenols. *Insect Biochem.*，21（4）：353－361.

Lindroth R L，1989. Chemical ecology of the luna moth: effects of host plant on detoxication enzyme activity. *J. Chem. Ecol.*，15（7）：2 020－2 029.

Parr J C，Thurston R，1972. Toxicity of nicotine in synthetic diets to larvae of the tobacco hornworm. *Ann. Ent. Soc. Amer.*，65：1 185－1 188.

Qin J D，1987. The Relationships between Insects and Plants－Insect-plant Interactions and Their Coevolution. Beijing: Science Press. 38－58.［钦俊德，1987. 昆虫与植物的关系——论昆虫与植物的相互作用及其演化. 北京：科学出版社. 38－58］

Schoonhoven L M，Meerman J，1978. Metabolic cost of changes in diet and neutralization of allelochemics. *Entomol. Exp. Appl.*，24：489－493.

Tang D L，Wang C Z，Luo L E，Qin J D，2000. Comparative study on the responses of maxillary sensilla styloconica of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* and oriental tobacco budworm *H. assulta* larvae to phytochemicals. *Sci. China*（*Ser. C*），43（6）：606－613.

van Asperen K，1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.*，8：401－416.

Wang C Z，1997. Effects of gossypol and tannic acid on the growth and digestion physiology of cotton bollworm larvae. *Acta Phytophylacica Sin.*，24（1）：13－18.［王琛柱，1997. 棉酚和单宁酸对棉铃虫幼虫生长和消化生理的影响. 植物保护学报，24（1）：13－18］

Wang C Z，Dong J F，2001. Interspecific hybridization of *Helicoverpa armigera* and *H. assulta*（Lepidoptera: Noctuidae）. *Chin. Sci. Bull.*，46（6）：489－491.

Whittaker R H，Feeny P P，1971. Allelochemics: chemical interactions between species. *Science*，171（3973）：757－770.

Xu G，Qin J D，1987. Responses of two *Heliothis* species to plant secondary substances: the influence of host secondary substances on larval growth and food utilization. *Acta Entomol. Sin.*，30（4）：359－366.［许刚，钦俊德，1987. 实夜蛾属二近缘种对寄主植物次生物质的反应：次生物质对幼虫生长和食物利用的影响. 昆虫学报，30（4）：359－366］

Yu S J，Hsu E L，1985. Induction of hydrolases by allelochemicals and host plants in fall armyworm（Lepidoptera: Noctuidae）larvae. *Environ. Entomol.*，14：512－515.